بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده علوم
بخش شیمی

پایان نامه تحصیلی برای دریافت درجه کارشناسی ارشد شیمی تجزیه

میکرواستخراج مایع-مایع پخشی مقادیر بسیار کم رودیوم بر اساس جامد سازی قطره آلی شناور و ساخت حسگر الکتروشیمیایی برای تعیین-استیل سیستئین و D-پنی سیل آمین با استفاده ازالکترود خمیر کربن اصلاح شده با نانولوله ها ی کربنی

مؤلف:
فاطمه السادات میررحیمی

استاد راهنما:
دکتر محمد علی طاهر

استاد مشاور:
دکتر هادی بیت الهی

دی ماه ۱۳۹۰

تقدیم به پدر و مادر عزیزم

که ارزنده تر از مهرشان در سینه، سرمایه ای ندارم.

آنان که در مکتب زندگی، عشق ورزیدن را به من آموختند.

چشمانم تا ابد، فرش قدومشان باد.

تشکّر و قدردانی:

سپاس، خدای را که سزاوار وجودم ساخت و از عدم، بازم خواند و توفیق کسب دانش را به من عطا فرمود.

تشکّر و قدردانی صمیمانه‌ی خود را به استاد بزرگوارم، جناب آقای دکتر محمد علی طاهر که در طول دوران کارشناسی ارشد و انجام این پروژه، افتخار شاگردی ایشان را داشتم، تقدیم می دارم. همچنین از استاد مشاور، جناب آقای دکتر هادی بیت الهی، که بزرگوارانه با نظرات ارزشمند خویش راه گشایِ انجام این تحقیق شدند،کمال تشکّر را دارم. از درگاه خداوند متعال برای ایشان سلامتی و توفیقِ روزافزون را خواستارم.

از اساتید بزرگوار، جناب آقای دکتر نوروزیان و جناب آقای دکتر مصطفوی که زحمت داوری این پایان نامه را به خود هموار دیده و در تصحیح گزارش نهایی آن کمال دقت را داشته اند، سپاس بی کران دارم.

از خانواده ی عزیزم به خاطر زحمات بی پایانشان برای همیشه سپاسگزارم.

در پایان با سپاس از دوستانِ عزیزم و تمامی کسانی که با صبوریِ تمام، مرا در انجام این پژوهش، یاری کردند و نگذاشتند که سختیِ کار، مرا از ادامهٔ آن بازدارد، سپاسگزاری می کنم.

چکیده

در قسمت اول کار حاضر، از یک حلال استخراج کننده با سمیت کم برای استخراج مقادیر ناچیز رودیوم از نمونه های آبی استفاده شد. یون های رودیوم با ۱-(۲-پیریدیلازو)-۲-نفتول (PAN) تشکیل کمپلکس داده و با روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی استخراج شد. نوع و حجم حلال استخراج کننده و پخش کننده، زمان سانتریفیوژ، مقدار عامل کیلیت دهنده و قدرت یونی نمونه بررسی شد. در شرایط بهینه، حد تشخیص و انحراف استاندارد نسبی به ترتیب ۰/۳۶ ng mL^{-1} ($3S_b/m$, n=7) و ٪۲/۰± (n=7) می باشد. منحنی کالیبراسیون در گستره ی ۴/۰-۸۰۰/۰ ng mL^{-1} به دست آمد. روش مورد نظر برای اندازه گیری رودیوم در آب چاه و آب آشامیدنی به کار برده شد.

در قسمت دوم کار حاضر یک الکترود خمیر کربن اصلاح شده با نانولوله ی کربنی جدید برای اندازه گیری N-استیل سیستئین استفاده گردید و یک فعالیت اکسایشی الکتروکاتالیزی قوی برای N-استیل سیستئین در اضافه ولتاژ کمتر، جریان بیشتر و حساسیت خوب نشان داد. در شرایط بهینه، حس گر الکتروشیمیاییN-استیل سیستئین یک منحنی کالیبراسیون خطی در گستره ی µM ۰/۳-۷۰۰/۰ و حد تشخیص ۰/۰۹ µM نشان داد. برای اندازه گیری همزمان N-استیل سیستئین و فولیک اسید ولتامتری موج مربعی بکار برده شد. سرانجام روش پیشنهادی برای اندازه گیری N-استیل سیستئین در نمونه ی قرص N-استیل سیستئین مورد استفاده قرار گرفت.

در قسمت سوم کار، دو آمینواسید D-پنی سیل آمین و تریپتوفان با استفاده از الکترود خمیر کربن اصلاح شده با نانولوله ی کربنی و بنزوئیل فروسن می توانند به طور همزمان در محلول آبی (pH=۷/۰) اندازه گیری گردند. نتایج نشان داد که به دلیل کاهش اضافه ولتاژ تا ۱۵۵ mV، الکترود بر حسب فعالیت الکتروکاتالیزی خود برای اکسایش D-پنی سیل آمین کارامد است. با استفاده از ولتامتری موج مربعی، اندازه گیری D-پنی سیل آمین و تریپتوفان در یک مخلوط می تواند با یک اختلاف پتانسیل تقریبا ۲۰۵ mV به صورت مستقل از هم انجام گیرد. حس گر الکتروشیمیایی پیشنهادی منحنی کالیبراسیون خطی برای D-پنی سیل آمین در گستره ی µM ۱/۰-۸۰۰/۰ و حد تشخیص ۰/۱۲ µM ارائه داد. سرانجام روش پیشنهادی برای اندازه گیری D-پنی سیل آمین در نمونه کپسول آن به کار برده شد.

کلید واژه: پیش تغلیظ رودیوم، میکرواستخراج مایع-مایع، منجمد سازی قطره آلی شناور، جذب اتمی شعله، N-استیل سیستئین، D-پنی سیل آمین، فعالیت الکتروکاتالیتیکی، الکترود خمیر کربن اصلاح شده با نانولوله ی کربنی

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول-بخش تئوری

۱-مقدمه..... ۲
۱-۲روشهای استخراج..... ۲
۱-۲-۱استخراج مایع-مایع..... ۲
۱-۲-۲استخراج فاز جامد..... ۳
۱-۲-۲-۱ انواع روش های استخراج فاز جامد..... ۳
۱-۳روشهای میکرواستخراج..... ۴
۱-۳-۱میکرو استخراج فاز جامد..... ۴
۱-۳-۲میکرو استخراج فاز مایع..... ۵
۱-۳-۲-۱ میکرو استخراج تک قطره ۵
۱-۳-۲-۲ میکرو استخراج فاز مایع با فیبر تو خالی..... ۶
۱-۳-۲-۳ میکرو استخراج مایع-مایع پخشی..... ۸
۱-۳-۲-۴ میکرو استخراج قطره آلی شناور منجمد..... ۹
۱-۳-۲-۵ میکرو استخراج مایع-مایع پخشی بر اساس جامد سازی قطره آلی شناور..... ۱۰
۱-۴ رودیوم..... ۱۰
۱-۴-۱ ویژگی های فیزیکی و شیمیایی رودیوم..... ۱۰
۱-۴-۲ کاربردها و مروری بر کارهای انجام شده ی قبلی..... ۱۱
۱-۵تجزیه الکتروشیمیایی..... ۱۲
۱-۶ اهمیت اندازه گیری مواد..... ۱۲
۱-۶-۱ اهمیت اندازه گیری N استیل سیستئین و مروری بر کارهای انجام شده..... ۱۲
۱-۶-۲ اهمیت اندازه گیری فولیک اسید و مروری بر کارهای انجام شده..... ۱۴
۱-۶-۳ اهمیت اندازه گیری D-پنی سیل آمین و مروری بر کارهای انجام شده..... ۱۵
۱-۶-۴ اهمیت اندازه گیری تریپتوفان و مروری بر کارهای انجام شده..... ۱۶

عنوان	صفحه

۱-۷نانوتکنولوژی و انواع نانو مواد ۱۷
۱-۷-۱ نانولوله های کربنی ۱۸
۱-۷-۲ ساختار نانولوله های کربنی ۱۹
۱-۷-۲-۱ نانولوله های کربنی تک دیواره ۱۹
۱-۷-۲-۲ نانولوله های کربنی چند دیواره ۱۹
۱-۷-۳ کاربرد نانولوله های کربنی در الکتروشیمی ۲۰
۱-۸ روش های اصلاح شیمیایی الکترودهای کار ۲۱
۱-۸-۱ الکترودهای خمیر کربن ۲۲
۱-۸-۱-۱ تاریخچه ۲۲
۱-۸-۱-۲ الکترودهای خمیر کربن اصلاح شده ۲۴
۱-۹ استفاده از الکترودهای اصلاح شده در سنجش های همزمانی ۲۴
۱-۱۰ تاریخچه ولتامتری ۲۵
۱-۱۰-۱ مزایای روش های ولتامتری ۲۵
۱-۱۰-۲ روشهای اصلاح شده ی ولتامتری ۲۵
۱-۱۰-۲-۱ ولتامتری چرخه ای ۲۵
۱-۱۰-۲-۲ ولتامتری موج مربعی ۲۷
۱-۱۰-۲-۳ کرنوآمپرومتری ۲۸
۱-۱۱ واکنش های الکتروکاتالیزی ۲۹
۱-۱۲ بررسی مکانیسم واکنش ها ۳۰
۱-۱۲-۱ مکانیسم EC ۳۰
۱-۱۲-۲ مکانیسم CE ۳۱
۱-۱۲-۳ مکانیسم $ErCi'$ ۳۱
۱-۱۲-۴ مکانیسم $E_rC_iE_r$ ۳۱
۱-۱۲-۵ سایر مکانیسم ها ۳۲

عنوان **صفحه**

فصل دوم- بخش تجربی

۲-۱ میکرواستخراج مایع-مایع پخشی بر اساس جامد سازی قطره آلی شناور برای جداسازی و پیش تغلیظ مقادیر بسیار کم رودیوم و تعیین آن توسط اسپکترومتری جذب اتمی شعله ۳۴

۲-۱-۱ وسایل و دستگاه های مورد استفاده ۳۴

۲-۱-۲ مواد شیمیایی مورد استفاده ۳۴

۲-۱-۳ تهیه محلول های مورد نیاز ۳۵

۲-۱-۴ شرایط بهینه دستگاه جذب اتمی شعله برای اندازه گیری رودیوم ۳۶

۲-۱-۵ روش کار ۳۶

۲-۱-۶ بهینه سازی روش برای تغلیظ و استخراج رودیوم ۳۷

۲-۱-۶-۱ بررسی اثر نوع حلال استخراجی ۳۷

۲-۱-۶-۲ بررسی اثر حجم حلال استخراجی ۳۸

۲-۱-۶-۳ بررسی اثر pH ۳۹

۲-۱-۶-۴ اثر حجم عامل کمپلکس دهنده بر بازیابی یون های رودیوم ۴۱

۲-۱-۶-۵ بررسی اثر نوع حلال پخش کننده ۴۲

۲-۱-۶-۶ بررسی اثر حجم حلال پخش کننده ۴۴

۲-۱-۶-۷ بررسی اثر افزودن نمک ۴۵

۲-۱-۶-۸ اثر زمان استخراج ۴۵

۲-۱-۶-۹ بررسی اثر زمان سانتریفیوژ ۴۶

۲-۱-۶-۱۰ بررسی اثر مزاحمت یون ها ۴۷

۲-۱-۷ ارزیابی روش ۴۹

۲-۱-۷-۱ منحنی کالیبراسیون ۴۹

۲-۱-۷-۲ فاکتور افزایشی روش ۵۰

۲-۱-۷-۳ تکرار پذیری روش ۵۱

عنوان	صفحه
۲-۱-۷-۴ حد تشخیص روش.....	۵۲
۲-۱-۸ کاربرد روش.....	۵۳
۲-۱-۸-۱ اندازه گیری رودیوم در نمونه های آبی.....	۵۳
۲-۱-۸-۲ اندازه گیری رودیوم در نمونه آلیاژ استاندارد.....	۵۳
۲-۱-۹ مقایسه روش میکرو استخراج مایع-مایع پخشی-جابجایی بر اساس جامد سازی قطره آلی شناور در جداسازی و پیش تغلیظ رودیوم با سایر روش ها.....	۵۴
۲-۱-۱۰ بحث و نتیجه گیری.....	۵۴
۲-۲ الکترود خمیر کربن اصلاح شده با نانو لوله ها ی کربنی و اصلاح گر بنزوئیل فروسن برای بررسی رفتار الکتروکاتالیستی N-استیل سیستئین و پنی سیل آمین.....	۵۷
۲-۲-۱ مقدمه.....	۵۷
۲-۲-۲ وسایل و دستگاه های مورد استفاده.....	۵۷
۲-۲-۳ مواد و معرف های شیمیایی مورد استفاده.....	۵۸
۲-۲-۴ تهیه محلول های مورد نیاز.....	۵۸
۲-۲-۵ تهیه الکترودهای خمیر کربن اصلاح شده با BF و نانولوله های کربنی.....	۵۹
۲-۲-۶ بررسی رفتار الکتروشیمیایی الکترود خمیر کربن اصلاح شده با BF و نانولوله های کربنی (BFCNPE).....	۶۰
۲-۲-۶-۱ بررسی سرعت روبش پتانسیل بر رفتار الکتروشیمیایی BFCNPE.....	۶۰
۲-۲-۷ بررسی رفتار الکتروشیمیایی N-استیل سیستئین و فولیک اسید در سطح BFCNPE.....	۶۰
۲-۲-۷-۱ اکسایش الکتروکاتالیزی N-استیل سیستئین در سطح BFCNPE.....	۶۰
۲-۲-۷-۲ اثر سرعت روبش پتانسیل بر رفتار الکتروکاتالیزی N-استیل سیستئین در سطح BFCNPE.....	۶۳
۲-۲-۷-۳ بررسی اکسایش الکتروکاتالیزی N-استیل سیستئین به روش کرنوآمپرومتری.....	۶۴

عنوان **صفحه**

۲-۲-۷-۴ بررسی اکسایش الکتروکاتالیزی N-استیل سیستئین در سطح BFCNPE به روش ولتامتری موج مربعی..... ۶۶

۲-۲-۷-۵ اندازه گیری همزمان N-استیل سیستئین و فولیک اسید در سطح BFCNPE به روش ولتامتری موج مربع..... ۶۷

۲-۲-۷-۶ تجزیه نمونه ی حقیقی..... ۶۸

۲-۲-۷-۷ مقایسه ی داده های ولتامتری N-استیل سیستئین در کار حاضر با سایر کارهای گزارش شده..... ۷۰

۲-۲-۸ بررسی رفتار الکتروشیمیایی D-پنی سیل آمین در سطح BFCNPE..... ۷۲

۲-۲-۸-۱ اکسایش الکتروکاتالیزی D-پنی سیل آمین در سطح BFCNPE..... ۷۲

۲-۲-۸-۲ اثر سرعت روبش پتانسیل بر رفتار الکتروکاتالیزی D-پنی سیل آمین در سطح BFCNPE..... ۷۳

۲-۲-۸-۳ بررسی اکسایش الکتروکاتالیزی D-پنی سیل آمین به روش کرنوآمپرومتری..... ۷۵

۲-۲-۸-۴ بررسی اکسایش الکتروکاتالیزی D-پنی سیل آمین در سطح BFCNPE به روش ولتامتری موج مربعی..... ۷۶

۲-۲-۸-۵ اندازه گیری همزمان D-پنی سیل آمین و تریپتوفان در سطح BFCNPE به روش ولتامتری موج مربعی..... ۷۷

۲-۲-۸-۶ تجزیه نمونه ی حقیقی..... ۷۹

۲-۲-۸-۷ مقایسه ی داده های ولتامتری D- پنی سیل امین در کار حاضر با سایر کارهای گزارش شده..... ۸۰

۲-۲-۹ نتیجه گیری..... ۸۰

منابع..... ۸۲

فصل اول

بخش تئوری

۱-۱ مقدمه

با وجود پیشرفت های علمی وفناوری های قابل توجه در شیمی تجزیه، هنوز بیشتر تجهیزات به طور مستقیم توانایی اندازه گیری نمونه های پیچیده را ندارند و معمولا یک مرحله آماده سازی نمونه قبل از انجام تجزیه دستگاهی صورت می گیرد. هدف از مرحله آماده سازی نمونه، خالص سازی و تغلیظ آنالیت می باشد [۱]. بسته به ساختار فیزیکی نمونه ها و ماهیت شیمیایی آن ها روش های مختلفی برای آماده سازی و تهیه نمونه ها مورد استفاده قرار می گیرد. اهداف عمومی این روش ها به شرح زیر می باشد [۲]:

* حذف مزاحمت های بالقوه بخصوص مزاحمت های ناشی از بافت نمونه در مراحل جداسازی و تشخیص نمونه و در نتیجه افزایش گزینش پذیری روش.
* تغلیظ نمونه به منظور اندازه گیری مقادیر کم و افزایش حساسیت روش.
* تبدیل گونه مورد تشخیص به فرم مناسب تر برای جداسازی و تشخیص بهتر.
* دستیابی به یک روش تکرار پذیر وکارامد که مستقل از تغییرات بافت نمونه عمل نماید.

قدیمی ترین و اساسی ترین روش آماده سازی نمونه، روش استخراج است [۳].

۱-۲ روش های استخراج

آماده سازی نمونه در یک فرایند تجزیه ای شامل مرحله ی استخراج است که منجر به تغلیظ و جدا نمودن گونه ی مورد بررسی از بافت نمونه می گردد. انتخاب روش استخراج به مواردی از قبیل نمونه، شرایط عمل ونوع فاز استخراج کننده بستگی دارد. روشهای استخراج از جمله استخراج مایع-مایع و فاز جامد روشهایی کارامد با راندمان بالا هستند، گرچه بدلیل محدودیت هایی که این روش ها دارند انواع روش های میکرواستخراج ابداع شده اند.

۱-۲-۱ استخراج مایع-مایع

اساس این تکنیک، بر مبنای توزیع گونه ها بین دو فاز غیر قابل امتزاج استوار است که یکی آلی و دیگری آبی است و توزیع به گونه ای است که نسبت غلظت گونه در هر دو فاز در یک دمای معین میزان ثابتی است. این تکنیک اغلب به منظور جداسازی و یا تغلیظ مقادیر ناچیز ترکیبات، استفاده می شود. از جمله مزیت های این روش می توان به امکان انتخاب حلال های خالص، سادگی، عدم نیاز به دستگاه های گران قیمت و پیچیده و قابلیت کاربرد از مقیاس آزمایشگاهی تا مقیاس صنعتی اشاره کرد. این روش علاوه بر مزایا، معایبی هم دارد. یکی از معایبی که دارد این

است که به حجم زیاد حلال با خلوص بالا نیازمند است. حلال های آلی اغلب سمی، گرانقیمت وقابل اشتعال هستند. از جمله معایب دیگر این روش، تشکیل امولسیون و قابلیت کم در خودکارسازی است و امکان آلودگی واز دست رفتن گونه ها در حین جداسازی افزایش می یابد.

۱-۲-۲ استخراج فاز جامد

این روش نخستین بار در اوایل دهه ۱۹۷۰ برای تغلیظ مواد آلی موجود در آب رودخانه ها توسط ستون های پر شده با ذرات ریز رزین، مورد استفاده قرار گرفت [۴]. در این روش نمونه مایع از درون ستون با ذرات جاذب جامد عبور داده می شود. آنالیت توسط فاز جامد جذب شده و استخراج و تغلیظ به وسیله جاذب صورت می گیرد. پس از پایان استخراج، جاذب برای حذف ناخالصی با حلال مناسب شسته و خشک می شود [۸-۵].

۱-۲-۲-۱ انواع روش های استخراج فاز جامد

استخراج فاز جامد به سه روش مختلف انجام می شود:

الف) استخراج فاز جامد به روش فاز معکوس:

هدف از این روش، جدا کردن ترکیبات نسبتاً غیر قطبی از محیطی قطبی مانند آب است. در این روش ذرات فاز جامد، باید از جنس مواد دارای خاصیت غیر قطبی مانند ذرات سیلیکای پوشیده با گروه اکتا دسیل یا پلیمرهای آلی حاوی حلقه های بنزن باشند.

ب) استخراج فاز جامد به روش فاز نرمال:

این روش برای استخراج ترکیبات قطبی از محیط غیر قطبی به کار می رود. در این روش از ذرات جامد قطبی برای استخراج آنالیت های قطبی از نمونه استفاده می شود.

ج) استخراج فاز جامد به روش تعویض یونی:

در این روش، ذرات فاز جامد، دارای گروه های فعال از نوع کاتیون یا آنیون می باشند. با استفاده از این نوع فاز جامد می توان ترکیبات یونی یا ترکیباتی را که با تنظیم pH به صورت یونی در می آیند، استخراج کرد. شویش به وسیله یک حلال آلی یا حلالی که حاوی غلظت نسبتاً بالایی از یک یون جایگزین باشد، انجام می گیرد [۹].

۱-۳ روش های میکرواستخراج

روش های استخراج فاز جامد، و مایع-مایع و وروشهایی از این دست، دارای معایب متعددی می باشند از جمله اینکه این روش ها وقت گیر و خسته کننده بوده و به دلیل چند مرحله ای بودن دارای زمان استخراج طولانی می باشند. همچنین آنالیت در این روش ها به مقدار زیادی از بین رفته و میزان مصرف حلال های آلی سمی نیز بالاست که باعث ایجاد بقایای مضر و آلودگی محیط زیست می شوند. با توجه به این مشکلات، تلاش هایی جهت مینیاتوری کردن روش ها صورت گرفته است [۱۰]. دو روش مینیاتوری شده استخراج عبارتند از:

الف) میکرواستخراج فاز جامد [1]

ب) میکرواستخراج فاز مایع [2]

که به توضیح مختصر آنها می پردازیم.

۱-۳-۱ میکرواستخراج فاز جامد

میکرواستخراج فاز جامد یک روش بسیار ساده در مقیاس کوچک می باشد که در اواخر دهه ی هشتاد توسط بلاردی و پالیشین معرفی شد [۱۱]. این روش برای غلبه بر محدودیت های استخراج فاز جامد مبتنی بر پوشش دادن مقدار کمی از فاز استخراج کننده بر روی فیبری از جنس سیلیکای گداخته و یا هر ماده دیگری گسترش یافت [۱۲]. وسیله استفاده شده برای این روش یک سرنگ اصلاح شده، شامل یک فیبر سیلیسی که با فاز ساکن پلی سیلوکسان یا مقداری از یک پلیمر دیگر پوشش داده شده است، می باشد. این فیبر درون لوله کوچکی از جنس فولاد ضد زنگ که به سوزن سرنگ متصل شده است، چسبانده می شود. ابتدا این سرنگ درون سوزن سرنگ قرار می گیرد، سپس فیبر پوشش داده شده برای مدت زمان ۲ تا ۱۵ دقیقه درون محلول نمونه قرار می گیرد. در این زمان آنالیت ها توسط پوشش فیبر جذب می شوند، سپس فیبر به درون سوزن محافظ برگردانده شده و از ظرف نمونه خارج می شود. سپس سوزن به قسمت تزریق دستگاه وارد شده و فیبر از درون سوزن خارج و در معرض گرمای اتاقک تزریق قرار گرفته و واجذب حرارتی آنالیت صورت می گیرد. پس از آن، آنالیت در قسمت ورودی ستون متمرکز و فرآیند تجزیه نمونه آغاز می شود. از مزایای این روش حذف مزاحمت حلال بدلیل عدم استفاده از حلال، کاهش زمان آنالیز به دلیل همزمان بودن استخراج، پیش تغلیظ و تزریق درون فیبر است. یکی از معایب این روش این است که با افزایش واجذب نمونه از روی فیبر، احتمال تخریب فاز جاذب و

[1] Solid phase microextraction
[2] Liquid phase microextraction

ایجاد سیگنال ناخواسته، افزایش یافته و باعث کاهش دقت و صحت روش می شود. عیب دیگر این روش اثر حافظه ای می باشد، بدین معنی که ممکن است مقداری از نمونه از اندازه گیری قبلی بر روی فیبر باقی بماند که حتی در دماهای بالا نیز از بین نرفته و در اندازه گیری های بعدی ظاهر شود. مشکل دیگر محدودیت فازهای جاذب برای آنالیت های قطبی است، زیرا اکثر فازهای جاذب برای آنالیت های غیر قطبی تا نیمه قطبی قابل استفاده می باشند [۱۳].

۱-۳-۲ میکرواستخراج فاز مایع

میکرواستخراج فاز مایع در واقع شکل مینیاتوری شده استخراج مایع-مایع می باشد، که در آن به جای چند میلی لیتر حلال مورد نیاز در استخراج مایع- مایع رایج، فقط از چند میکرولیتر حلال غیر قابل امتزاج با آب برای تغلیظ آنالیت های مورد نظر از نمونه های مختلف استفاده می شود [۱۴]. در این روش ها میزان مصرف حلال استخراج کننده و تعداد مراحل استخراج نسبت به روش های استخراج مایع- مایع معمول بسیار کاهش یافته است. روش های متعددی در این زمینه توسعه یافته اند.

الف) میکرواستخراج تک قطره[1]

ب) میکرواستخراج فاز مایع با فیبر توخالی[2]

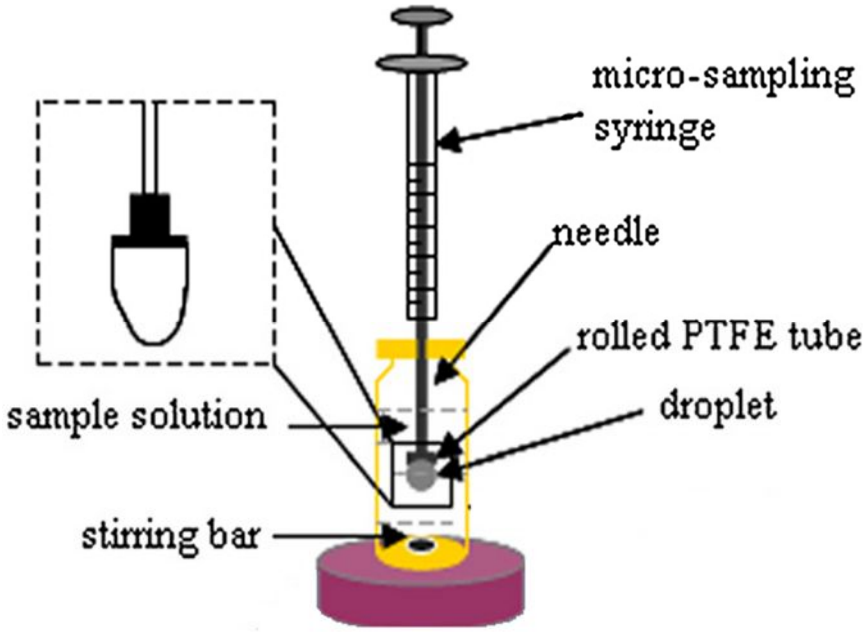
ج) میکرواستخراج مایع-مایع پخشی[3]

۱-۳-۲-۱ میکرواستخراج تک قطره

این تکنیک برای اولین بار در سال ۱۹۹۷ مطرح شد[۱۵]. در این روش یک قطره از فاز آلی در انتهای سرنگ قرار دارد که یا در تماس مستقیم با نمونه آبی در حال هم خوردن و یا در فضای فوقانی حاوی آنالیت قرار دارد که مورد اول، میکرواستخراج تک قطره مستقیم (شکل۱-۱) و مورد دوم، میکرواستخراج تک قطره فضای فوقانی نامیده می شود. بعد از مدت زمان مشخصی که استخراج صورت گرفت، قطره آلی به داخل میکروسرنگ کشیده شده و در نهایت برای دستیابی به علامت تجزیه ای، به سیستم کروماتوگرافی تزریق می گردد[۱۶]. در میکرواستخراج تک قطره استخراج کامل نیست و تنها کسر کوچکی از آنالیت استخراج و پیش تغلیظ می شود. این روش ساده، کم هزینه، سریع، بی نیاز از تجهیزات پیچیده و یک تکنیک آماده سازی نمونه ی

[1] Single drop microextraction
[2] Hollow fiber liquid phase microextraction (HF-LPME)
[3] Dispersive liquid-liquid phase microextraction (DLLME)

تقریباً عاری از حلال های سمی بوده و حلال های آلی مورد استفاده در آن نباید فرار باشند [۱۷]. مهم ترین معایب این روش، ناپایداری قطره در سرعت های بالای بهم زدن، تکرار پذیری ضعیف، سطح محدود قطره و در نتیجه سینتیک کند این روش می باشد [۱۸].



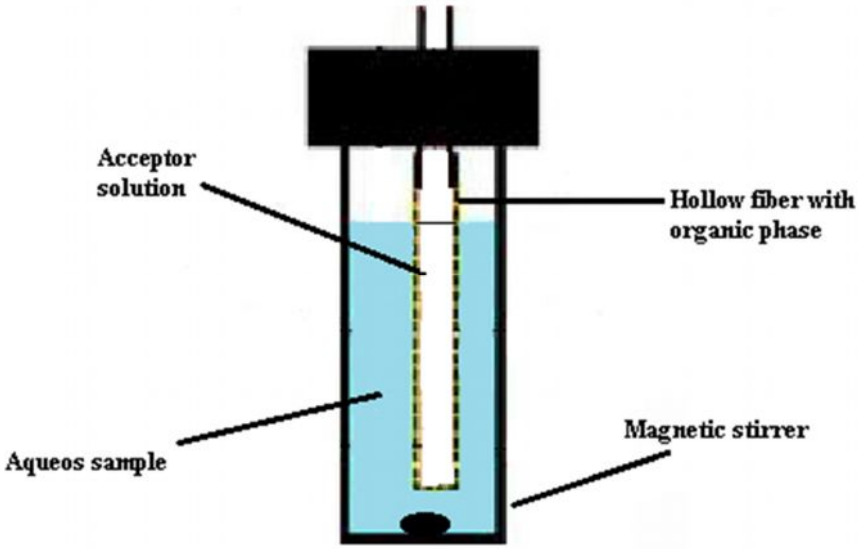
شکل (۱-۱): شمایی ازمیکرواستخراج تک قطره

۱-۳-۲-۲ میکرواستخراج فاز مایع با فیبر توخالی

در سال ۱۹۹۹، پدرسن[1] و راس موسن[2]، میکرواستخراج فاز مایع با فیبر توخالی را به عنوان راه حلی برای برطرف کردن معایب میکرواستخراج تک قطره ابداع کردند. در این روش از یک فیبر توخالی که از جنس پلی پروپیلن بوده و توسط یک سرنگ نگه داشته می شود، جهت استخراج استفاده می شود [۱۹]. فیبر در حلال استخراج کننده قرار می گیرد تا خلل و فرج آن توسط حلال پر شود، سپس مجرای درون فیبر با محلول پذیرنده ای[3] پر می شود. محلول پذیرنده می تواند یک حلال آلی مشابه با حلال آلی استفاده شده در منافذ فیبر توخالی و یا یک محلول آبی اسیدی یا قلیایی باشد که به ترتیب منجر به ایجاد سیستم های استخراج دو فازی و سه فازی می شوند [۱۴]. برای عمل استخراج فیبر درون محلول حاوی آنالیت در حال هم خوردن قرار می گیرد. در این

[1] Pedersen
[2] Rasmussen
[3] Acceptor solution

هنگام، آنالیت از نمونه آبی به استخراج کننده منتقل می شود، پس از عمل استخراج، حجم مشخصی از حلال گیرنده داخل فیبر کشیده می شود و به انواع دستگاه های تجزیه ای از قبیل کروماتوگرافی گازی[1]، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا[2] و الکتروفورز موئینه[3] تزریق می گردد(شکل ۱-۲).



شکل (۱-۲): شمایی از میکرواستخراج فاز مایع توسط فیبر تو خالی.

در این روش به دلیل ارزانی فیبرهای مورد استفاده نیازی به استفاده مجدد از فیبرها نمی باشد، لذا اثرات حافظه ای که در میکرواستخراج فاز جامد با آن مواجه ایم وجود ندارد. درمقایسه با میکرواستخراج تک قطره می توان سرعت بهم زدن و در نتیجه انتقال جرم را افزایش داده و همچنین چون حلال استخراجی در داخل فیبر محافظت می شود برای محلول های کثیف هم می توان از این روش استفاده کرد. این روش برای آنالیت های آلی و معدنی با گستره وسیعی از قطبیت مناسب بوده و قابلیت کوپل شدن آنلاین را با دستگاه کروماتوگرافی و دیگر سیستم های تجزیه ای دارا می باشد [۲۳-۲۰].

از جمله معایب میکرواستخراج فاز مایع با فیبر توخالی می توان به موارد زیر اشاره کرد:

وجود غشاء بین نمونه و فاز پذیرنده سرعت استخراج را کاهش و زمان استخراج را افزایش می دهد. در نوع دو فازی آن، حلال آلی زیادی برای شویش آنالیت ها از مجاری و منافذ فیبر نیاز

[1] Gas Chromatography (GC)
[2] High Performance Liquid Chromatography (HPLC)
[3] Capillary Electrophoresis (CE)

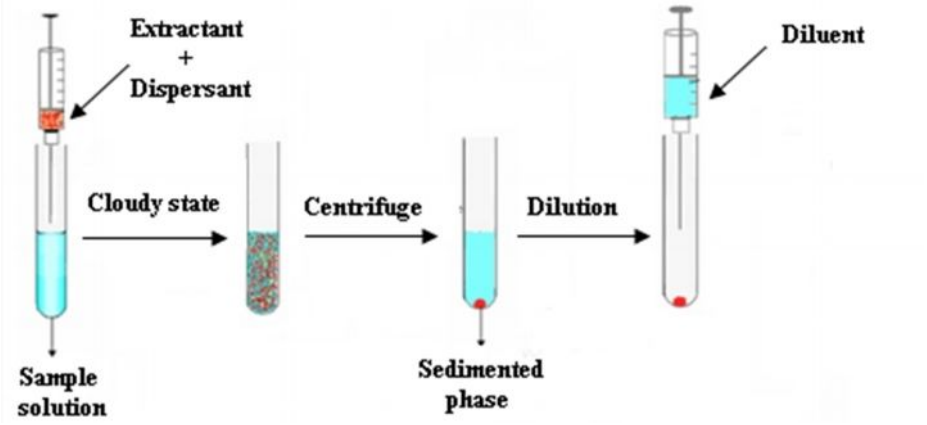
بوده و فرآیندی وقت گیر نیز می باشد. ایجاد حباب های هوا روی سطح فیبر توخالی سرعت انتقال گونه موردنظر و تکرارپذیری استخراج را کاهش می دهد. در نمونه های حقیقی (مانند پلاسمای خون، ادرار و فاضلاب)، جذب سطحی مواد آبگریز بر روی سطح فیبر ممکن است موجب مسدود شدن منافذ فیبر شود [۲۴]. عیب دیگر این روش آن است که در موقع قرار دادن فیبر در انتهای سرنگ، با دستکاری کردن ممکن است فیبر آلوده شود.

۱-۳-۲-۳ میکرواستخراج مایع-مایع پخشی

میکرواستخراج مایع- مایع پخشی، یک روش جداسازی و پیش تغلیظ است که برای اولین بار توسط اسدی و همکارانش در سال ۲۰۰۶ ارائه شد [۲۵]. این روش بر پایه اصول سیستم های سه جزئی بنا شده است، شامل یک حلال آلی استخراج کننده که باید دانسیته ای بیشتر از آب داشته باشد. جزء دوم، یک حلال آلی پخش کننده است که باید قابلیت انحلال در هر دو فاز آبی وآلی را داشته باشد. جزء سوم فاز آبی حاوی نمونه است. روش کار به این ترتیب است که ابتدا حجم مشخصی (چند میکرولیتر) از حلال آلی استخراج کننده به حجم معینی (۵-۲ mL) حلال پخش کننده افزوده می شود. سپس مخلوط به کمک یک سرنگ به سرعت به نمونه آبی حاوی آنالیت تزریق می گردد، در نتیجه محلول کدر (ابری) می شود که این پدیده به علت پخش قطرات ریز حلال استخراج کننده در محلول آبی است. بر اثر پخش حلال آلی استخراج کننده در درون آب، سطح تماس مولکول های آب و حلال آلی به میزان بسیار زیادی در مقایسه با استخراج مایع-مایع معمولی افزایش می یابد. این امر باعث می شودکه حالت تعادل مربوط به گونه استخراج شونده به دلیل افزایش سرعت انتقال جرم بین آب و حلال آلی به سرعت به دست آمده و استخراج مستقل از زمان شود [۲۶]، که این مورد یکی ازمزایای میکرواستخراج مایع-مایع پخشی است. سپس این محلول برای مدت کوتاهی تحت سانتریفیوژ قرار می گیرد. پس از سانتریفیوژ، حلال آلی استخراجی که در حال حاضر غنی از آنالیت است، از توده محلول جدا شده و به صورت یک فاز جداگانه در ته لوله می ماند، این فاز ته نشین شده که حاوی آنالیت نیز می باشد، جهت آنالیز با روش های دستگاهی مورد استفاده قرار می گیرد [۲۷].

برتری این روش نسبت به سایر روش های LPME، زمان بسیار اندک استخراج، سادگی روش، هزینه پایین، حجم کم نمونه و فاکتور تغلیظ بالای آن است. از معایب این تکنیک سخت خودکار شدن، نیاز به استفاده از حلال آلی پخش کننده که ضریب توزیع آنالیت به حلال استخراجی را کاهش دهد و نیز محدودیت در انتخاب حلال استخراج کننده که باید دانسیته بالایی داشته باشد،

اشاره کرد. این تکنیک بیشتر برای نمونه های آبی بکار می رود [۱۸]. شکل (۱-۳) مراحل این پیش تغلیظ را نشان می دهد.



شکل (۱-۳): میکرواستخراج مایع-مایع پخشی.

۱-۳-۲-٤ میکرواستخراج قطره آلی شناور منجمد

روش میکرواستخراج قطره آلی شناور منجمد یکی از جدیدترین روش های ارائه شده در میکرواستخراج فاز مایع می باشد که در سال ۲۰۰۷ توسط خلیلی زنجانی و همکارانش برای اندازه گیری هیدروکربن های آروماتیک چند حلقه ای از نمونه های آبی مورد استفاده قرار گرفت [۲۴]. این روش مشکلات میکرواستخراج تک قطره ای (تمایل قطره برای بیرون رانده شدن از نوک میکروسرنگ و رخ دادن استخراج مایع در تماس با سطح) را از بین برد. در این روش چند میکرولیتر از حلال آلی با نقطه ی ذوب نزدیک به دمای اتاق و دانسیته کمتر از آب، بر روی سطح محلول آبی حاوی گونه ی مورد نظر شناور شده و محلول برای مدت زمان معینی بهم زده می شود. سپس ظرف نمونه در حمام یخ گذاشته می شود تا فاز آلی منجمد گردد. در نهایت فاز آلی منجمد شده جداسازی و اجازه داده می شود تا ذوب شده وسپس با روش های مناسب تجزیه ای اندازه گیری می شود.

این روش شامل مزایایی از قبیل قیمت کم، سادگی سیستم، حساسیت زیاد، دقت و صحت مناسب، حداقل مصرف حلال های آلی، امکان دستیابی به فاکتور تغلیظ بالا، جمع آوری آسان و بدون اتلاف فاز آلی می باشد. عیب اصلی این روش، عدم امکان استفاده از سرعت های بالای بهم زدن به دلیل متلاشی شدن قطره آلی می باشد که باعث می شود زمان استخراج نسبتا طولانی شده و